

TERAPIA CELULAR ADOPTIVA: FUNDAMENTO Y ESTRATEGIAS

ADOPTIVE CELL THERAPY: BASIS AND STRATEGIES

ADRIÁN ÁLVAREZ FONTES

TRABALLO DE FIN DE GRAO

**CURSO ACADÉMICO
2021-2022**



Índice

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1. Carcinogénesis.....	3
3.2. Características de las células cancerosas	4
3.3. Inmunidad tumoral.....	6
3.3.1. Antígenos tumorales	7
3.3.2. Mecanismos de resistencia tumoral	9
3.4. Tratamiento antineoplásico	9
4. OBJETIVOS	12
5. MATERIALES Y MÉTODOS	12
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
6.1. Inmunoterapia: generalidades y estrategias.....	13
6.2. Terapia celular adoptiva.....	15
6.2.1. Terapia con células TIL.....	17
6.2.2. Terapia de TCR dirigido	20
6.2.3. Terapia CAR-T.	23
6.3. Discusión de los resultados	27
7. CONCLUSIONES	30
8. BIBLIOGRAFÍA	31
9. AGRADECIMIENTOS	35
10. ANEXO: Tabla de abreviaturas	36

1. RESUMEN

La inmunoterapia ha demostrado su gran potencial en el tratamiento del cáncer, una de las principales causas de muerte a nivel mundial, ya que incrementa la respuesta del sistema inmune del paciente que juega un papel protagonista en la defensa, progresión y pronóstico tumoral. La terapia celular adoptiva (TCA) ha sido una de las inmunoterapias más investigadas en los últimos años; ésta mejora el reconocimiento de antígenos tumorales y aprovecha los mecanismos efectores de las células inmunitarias propias del individuo. Ha manifestado gran utilidad en el manejo de diferentes tipos de neoplasias, logrando incluso la completa regresión tumoral. Sigue en investigación y desarrollo para aumentar su efectividad, especificidad y seguridad; ya que no está exenta de limitaciones y efectos adversos. Actualmente, en España se dispone únicamente de dos medicamentos aprobados por las agencias reguladoras que se basan en esta técnica, indicados en casos refractarios a otros tipos de tratamiento. En la presente revisión bibliográfica se exponen los aspectos más importantes respecto a la inmunidad antitumoral y su relación con la inmunoterapia; así como el fundamento, las diferentes estrategias y los desafíos a solventar de la TCA.

PALABRAS CLAVE: inmunidad antitumoral, inmunoterapia, terapia celular adoptiva, linfocitos infiltrantes de tumor, TCR dirigido, CAR-T.

2. ABSTRACT

Cancer is one of the leading causes of death worldwide, and immunotherapy has proven to have great potential in its treatment as it increases the patient's immune system response, thus playing a key role in tumour defence, progression and prognosis. Adoptive cell therapy (ACT) has been one of the most investigated immunotherapies in the recent years; it enhances the recognition of tumour antigens and harnesses the effector mechanisms of the body's own immune cells. It has been proven to be very useful in the management of different types of malignancies, achieving complete tumour regression in some cases. However, ACT is currently still under research and development to increase its effectiveness, specificity and safety, as it is not free of limitations and adverse side effects. Currently there are only two drugs approved by the Spanish regulatory agencies that are based on this technique which are indicated in cases refractory to other types of treatment. This review presents the most important aspects of antitumour immunity and its relationship with immunotherapy as well as the basis, the different strategies and the challenges of ACT.

KEY WORDS: antitumor immunology, immunotherapy, adoptive cell therapy, tumour infiltrating lymphocytes, targeted TCR, CAR-T.

3. INTRODUCCIÓN

La terapia celular adoptiva (TCA) o de transferencia de células T se trata de un tipo de inmunoterapia basada en la administración de linfocitos T tras ser expandidos/multiplicados y/o modificados *in vitro* potenciando así el sistema inmune del individuo (1). Está orientada para el tratamiento del cáncer y en los últimos años se han llevado numerosos estudios para su desarrollo ya que se postula como una terapia potencialmente más segura y eficaz que las convencionales.

El cáncer se define, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), como “un conjunto de enfermedades que se pueden originar en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo cuando células anormales crecen de forma descontrolada, sobrepasan sus límites habituales e invaden partes adyacentes del cuerpo y/o se propagan a otros órganos” (2). A nivel mundial, es una de las enfermedades con mayor mortalidad y morbilidad: se estima que en 2020 se detectaron 19,3 millones casos y 9,96 millones de muertes, asociadas en gran medida al cáncer de mama, pulmón, hígado y colorrectal (3).

Cuando las células crecen de forma descontrolada dan lugar a tumores, masas anormales de tejido, benignos o malignos. Los benignos están formados por células no cancerosas que no sufren metástasis (p. ej.: lunares, verrugas o pólipos); en cambio, los malignos los conforman células cancerosas con capacidad de invadir tejidos y corresponde siempre a un cáncer. No obstante, el cáncer no siempre va asociado a la formación de tumores, como es el caso de los hematológicos (p. ej.: leucemias o linfomas), y se clasifica en función de las características histológicas o el grado de extensión que presenta (4,5).

3.1. Carcinogénesis

La carcinogénesis se desencadena con la mutación, o la acumulación de varias mutaciones, en el ADN de la célula normal; de todos los genes implicados son especialmente relevantes los protooncogenes y genes supresores de tumores. Los primeros están implicados en el crecimiento y multiplicación celular, en cambio, los segundos regulan el crecimiento, reparación y muerte celular. Las células mutadas adquieren la capacidad de multiplicarse de forma descontrolada, una de las principales características del cáncer (6).

En un pequeño porcentaje de los casos, aproximadamente el 10%, las alteraciones genéticas son hereditarias; pero en gran medida se deben a mutaciones adquiridas resultado de la combinación de una serie de factores (7,8):

- **Factores epigenéticos:** modificaciones del material genético que no alteran la secuencia del ADN pero contribuyen a la inestabilidad genómica, creando así un ambiente más favorable para la carcinogénesis.
- **Factores físicos:** principalmente la radiación, como la UV o los rayos X, y el estrés mecánico sucesivo.
- **Factores químicos:** hace referencia a compuestos o moléculas relacionadas con la aparición de diferentes tipos de cáncer. Elementos como el arsénico o el cromo, fármacos, hormonas o sustancias de consumo, entre ellos, el alcohol y el tabaco.
- **Factores biológicos:** la infección por determinadas bacterias, hongos, virus o parásitos está correlacionada con la aparición de ciertos cánceres tales como el virus del papiloma humano (VPH) y el carcinoma de cérvix, *Helicobacter pylori* y el carcinoma gástrico o *Schistosoma haematobium* y el cáncer de vejiga.

Los agentes carcinógenos, los factores físicos, químicos y biológicos anteriormente descritos, son fundamentales para la identificación de factores de riesgo como la edad, sexo, hábitos o tratamientos farmacológicos y para la prevención del cáncer evitando hábitos tóxicos o vacunándose frente a VPH o hepatitis B, entre otros.

3.2. Características de las células cancerosas

Las células cancerosas, independientemente del tipo de cáncer, poseen una serie de cualidades comunes; de forma general, se describieron las siguientes:

- **Autonomía e independencia a señales de crecimiento:** se ven alteradas las vías activadoras y/o inhibitorias de proliferación y crecen indistintamente a las señales externas que regulan la homeostasia debido a la mutación de protooncogenes o genes supresores de tumores (6,9,10).
- **Evasión de la apoptosis:** bien por un desequilibrio entre proteínas que favorecen e inhiben la apoptosis, alteraciones en la señalización intercelular o pérdida de actividad proteasa en los mediadores apoptóticos (6,9,10).

- **Replicación ilimitada:** resultado de la alteración de los telómeros, secuencias repetitivas terminales de los cromosomas que protegen el ADN y rigen el número de divisiones que puede tener la célula. En las células normales estas secuencias se van acortando con cada división hasta un máximo donde no pueden replicarse más y, en cambio, en las cancerosas aumentan su tamaño. Dicha alteración induce la expresión de la telomerasa¹ oponiéndose así al acortamiento de los telómeros y permitiendo que la célula prolifere ilimitadamente (6,9–11).
- **Angiogénesis:** los tumores sólidos aumentan la liberación de factores angiogénicos formando vasos sanguíneos a partir de los circundantes para cubrir las necesidades nutricionales derivadas de su crecimiento descontrolado (6,9,10).
- **Capacidad invasiva y metastásica:** el acceso a tejidos vecinos o a otros más lejanos a través de la circulación, respectivamente, es una de las características principales del cáncer y uno de los motivos de su alta mortalidad. Es el resultado de alteraciones morfológicas, de adhesión a la matriz y/o del receptor del factor de crecimiento epidérmico o de transiciones epitelio-mesenquimáticas, entre otros (6,9,12).
- **Alteración metabólica:** se modifican sus vías metabólicas para la obtención de nutrientes necesarios para el crecimiento celular. Un ejemplo es el efecto Warburg, pasan a metabolizar la glucosa por glucólisis anaeróbica aún en presencia de oxígeno para así obtener mayor cantidad de metabolitos para la síntesis de componentes (9,13,14).
- **Resistencia al sistema inmune:** la mayor parte de las células cancerosas escapan de la respuesta inmunitaria bien por la inhibición de ésta o por falta de inmunogenicidad (p.ej. no expresan antígenos tumorales)(9,15).

Es importante destacar que un tumor no solo es un conjunto de células cancerosas localizadas en un determinado tejido, sino que también incluye una serie de células y mediadores que en su conjunto se denomina microambiente tumoral (TME, *tumour microenvironment*). El TME

¹ Telomerasa: enzima que se expresa en células de división ilimitada (p.ej.: células germinales o células madre) que se encarga del mantenimiento de los telómeros y, por lo tanto, de su capacidad proliferativa (11).

tiene un papel crucial en la respuesta inmunológica y en la progresión del cáncer ya que puede bien estimular la acción de las células inmunes efectoras o contribuir a la evasión tumoral.

3.3. Inmunidad tumoral

El sistema inmunitario se encarga de detectar las células anómalas, eliminarlas y evitar su proliferación durante la carcinogénesis. Este proceso se denomina inmunovigilancia e implica tanto al sistema inmune innato como adaptativo (linfocitos T y B)(16).

Los principales mediadores de la respuesta antitumoral son los linfocitos T CD8⁺ o citotóxicos (CTL, *cytotoxic T lymphocytes*) y colaboradores o CD4⁺. Para su activación, en primer lugar, las células presentadoras de antígenos (APC, *antigen-presenting cell*), concretamente las células dendríticas, reconocen e integran los antígenos tumorales, maduran y migran a los órganos linfáticos periféricos o secundarios (ganglios linfáticos y bazo) donde interaccionan con los linfocitos T. Como resultado, estos se activan, multiplican y diferencian en linfocitos tumor-específicos que migran al tejido afectado (16,17).

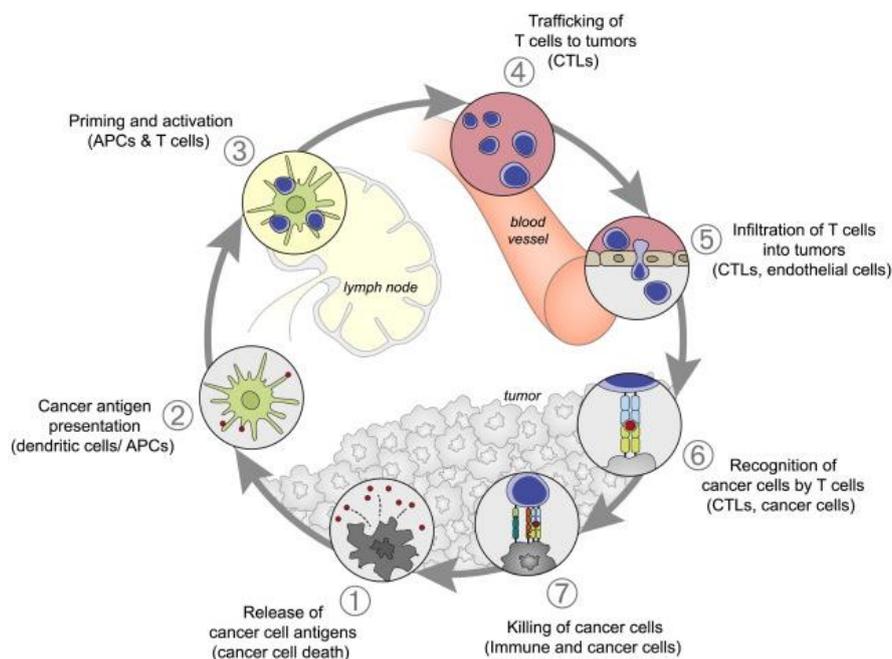


FIGURA 1. Ciclo de la respuesta inmunitaria antitumoral. La respuesta comienza con la liberación de antígenos tumorales (1) que son captados por las APCs (2) y llevados hasta los órganos linfoides secundarios donde son presentados a los linfocitos T (3). Estos retornan a la circulación activados (4) y pueden infiltrarse en los tumores (5), reconocer a las células cancerosas (6) y eliminarlas mediante una serie de mecanismos efectoras (7). Fuente: (18).

Los linfocitos T CD4⁺, de forma general, regulan la respuesta inmune mediante la liberación de citocinas como el interferón γ (IFN- γ) induciendo una mayor respuesta por parte de los linfocitos CD8⁺. Además, activan linfocitos B e incrementan la actividad de células del sistema inmune innato como los linfocitos NK (*Natural Killer*; células citotóxicas que provocan la lisis por liberación de enzimas) y macrófagos (15,17).

Los CTL, en cambio, eliminan las células cancerosas mediante una serie de mecanismos: la exocitosis de enzimas como la perforina que forma poros en la membrana y permite la entrada de la granzima, enzima inductora de la apoptosis; o la activación del receptor Fas², entre otros (19,20). En consecuencia, se liberan más antígenos y la respuesta inmune continúa (16).

Por otro lado, las inmunoglobulinas intervienen activando el sistema de complemento o mediando la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, en la que ciertos macrófagos y linfocitos NK producen la lisis celular. Aunque su papel en la respuesta inmunitaria frente al cáncer es secundaria, tiene mayor relevancia en su tratamiento, concretamente, en la inmunoterapia (15,17).

Por último, el sistema de complemento es un conjunto de proteínas plasmáticas asociadas a membranas o intracelulares implicado en la respuesta inmune e inflamatoria. Es un componente de la inmunidad innata que facilita la fagocitosis, produce la lisis de células afectadas y también potencia la actividad de linfocitos. Pero por otro lado, como indican los últimos estudios, participa también en la iniciación, promoción y metástasis de las neoplasias (21).

3.3.1. [Antígenos tumorales](#)

Un antígeno es cualquier molécula, exógena o endógena, susceptible de ser reconocida por el sistema inmune y desencadenar una respuesta. Este concepto engloba un gran número de moléculas biológicas y en el caso de las células cancerosas son generalmente peptídicas; destacan las siguientes:

² Los CTL expresan una proteína de membrana denominada ligando Fas (FASL) que, al interactuar con el receptor Fas presente en las células, produce su apoptosis por activación de la proteína FADD (*Fas-associated death domain*)(19).

- **Neoantígenos:** cadenas proteicas anormales resultantes de mutaciones pasajeras que se encuentran únicamente en células tumorales y no condicionan la creación de tumores (15,22).
- **Productos de virus oncogénicos:** los virus de ADN implicados en la carcinogénesis al integrarse en el material genético de las células sintetizan moléculas proteicas reconocibles (15).
- **Antígenos oncofetales:** proteínas presentes durante el desarrollo fetal y que en adultos se relacionan con estados inflamatorios y/o neoplásicos. Principalmente la α -fetoproteína y el antígeno carcinoembrionario (14,15).
- **Proteínas celulares:** proteínas normales sobreexpresadas o en localizaciones no habituales como es el caso de los antígenos cáncer-testículo. Estos se expresan en células de la línea germinal y en el tejido placentario de forma normal y en varios tipos de cáncer como los melanomas (15,23).
- **Glucoproteínas y glucolípidos de superficie:** las células cancerosas expresan estas macromoléculas de forma excesiva o anómala debido a la alteración metabólica y de expresión de enzimas (15).

Los antígenos, para ser reconocidos por los linfocitos T, deben expresarse en la superficie celular asociados a proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC; *major histocompatibility complex*) de clase I o II, presentes en todas las células nucleadas o en las APCs, respectivamente. El MHC I interviene en la activación de los linfocitos CD8⁺ y presenta antígenos que se encuentran en el citoplasma de la célula. En cambio, el MHC II presenta antígenos extracelulares, previamente ingeridos por las APCs y expresados en su superficie para activar así a los CD4⁺ (17).

Asimismo, algunas células dendríticas mediante la presentación cruzada pueden activar los CD8⁺ captando células muertas o antígenos, procesándolos y presentarlos en moléculas del MHC I. En cualquier caso, para ser activados, el receptor de los linfocitos T (TCR, *T cell receptor*) debe reconocer sincrónicamente el antígeno y aminoácidos del MHC y darse una serie de señales secundarias estimuladoras (puntos de control inmunitarios)(17,24).

3.3.2. Mecanismos de resistencia tumoral

Habitualmente el sistema inmune es incapaz de hacer frente a la progresión neoplásica. Las células cancerosas evaden la respuesta inmunitaria, tal y como se mencionó anteriormente, bien por la pérdida de inmunogenicidad o por inhibición inmune (15).

En el primer caso, las células cancerosas menos inmunogénicas sobreviven debido a la selección por parte del sistema inmune que elimina a las más inmunogénicas. Este fenómeno implica la aparición de mutaciones, favorecida por la inestabilidad genética característica de las neoplasias, que provocan una menor expresión de antígenos tumorales o de moléculas implicadas en su presentación, como las del MHC I. En consecuencia, los CTL son incapaces de reconocerlas y eliminarlas (14,15).

Por otro lado, la respuesta antitumoral puede ser inhibida por moléculas o células con capacidad inmunosupresora. Entre las más estudiadas se encuentran dos moléculas implicadas en la inhibición de linfocitos T: CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*) y PD-1 (*programmed cell death protein 1*), de interés en inmunoterapia. El aumento en su expresión se debe principalmente a la sobreestimulación de CTL que produce el agotamiento del linfocito y la expresión de moléculas inhibitoras. Además, células como los linfocitos reguladores o células supresoras derivadas de mieloides, presentes en TME, pueden inhibir la respuesta inmune mediante la liberación de citocinas supresoras (15,16).

Estos mecanismos son relevantes para entender cómo funciona la resistencia por parte de las células cancerosas, imprescindible para su progresión y metástasis, y como diana en inmunoterapia.

3.4. Tratamiento antineoplásico

Los objetivos en la terapia antineoplásica son detectar y/o caracterizar las células cancerosas, eliminar o reducir el tamaño de los tumores, potenciar la función inmune del paciente, mejorar la calidad de vida paliando la sintomatología grave y buscar la combinación de terapias complementarias más adecuada. En la selección de la terapia se tiene en cuenta: el tipo y estadio del cáncer, características del paciente y del tumor, las sinergias entre tratamientos, sus efectos adversos y las posibles complicaciones.

A continuación, se describen los principales abordajes utilizados frente al cáncer:

- **Cirugía:** se utiliza en tumores sólidos localizados, es decir, cuando no existe metástasis a otros tejidos aunque también puede ser efectiva como medida paliativa. De forma general, se extirpa el tumor primario o la lesión sospechosa para evitar así su progresión y diseminación o con fines diagnósticos. Es habitual, p. ej., en cáncer de mama, pulmón o colon (25).
- **Radioterapia:** se aplican radiaciones ionizantes, como rayos γ o X, que dañan el material genético, las proteínas y las membranas mediante la formación de radicales libres. Es útil tanto en monoterapia, en combinación, como coadyuvante o como tratamiento paliativo en casos de difícil remisión (25).
- **Quimioterapia:** consiste en la administración de fármacos que actúan principalmente por dos mecanismos: alterando la síntesis de ácidos nucleicos y otras macromoléculas o impidiendo la división celular. Se incluyen también los tratamientos hormonales, útiles en cánceres hormonodependientes como el de mama y el de próstata (25,26).
- **Inmunoterapia:** potencia la respuesta del sistema inmunitario del paciente y ejerce una acción más específica frente a las células cancerosas que las anteriormente descritas; lo que reduce potencialmente los efectos adversos ligados a la terapia antineoplásica. Teniendo en cuenta el papel del sistema inmune en el cáncer (*ver apartado 3.3.*), la inmunoterapia se desarrolla en base a tres objetivos o dianas: potenciar la interacción entre linfocitos T y APC, el bloqueo de los mecanismos inhibitorios o puntos de control y la transferencia de células o mediadores inmunitarios (16).

Las limitaciones de cada tipo de tratamiento en ocasiones dificultan el abordaje del cáncer y obliga a combinarlos para aumentar así la probabilidad de éxito. De forma general, los principales desafíos son: la efectividad en estadios metastásicos, útiles únicamente la quimioterapia e inmunoterapia; los efectos adversos asociados, sobre todo gastrointestinales, dermatológicos y hematológicos; y la susceptibilidad del tumor como es el caso los tumores más irrigados y en división celular, más sensibles a la quimioterapia y radioterapia (25,26).

En este contexto, tiene gran relevancia la TCA ya que soluciona gran parte de los retos terapéuticos actuales: son efectivos tanto de forma local como sistémica en algunos tipos de cáncer, tiene una gran especificidad y puede contrarrestar los mecanismos de resistencia a la respuesta antitumoral.

4. OBJETIVOS

En la presente revisión se pretende realizar un análisis exhaustivo de la bibliografía publicada en los últimos años sobre la TCA como tratamiento para el cáncer con el objetivo de:

- 1) Describir sus diferentes mecanismos, compararlos entre ellos y mostrar las ventajas y limitaciones que presentan.
- 2) Exponer el panorama actual en lo que corresponde a investigaciones o tendencias futuras para su aplicación terapéutica.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

La elaboración de la presente revisión se llevó a cabo tras una búsqueda y análisis detallados de la bibliografía relacionada con el tema, principalmente material disponible en línea.

En primer lugar, para una primera aproximación y la confección de la introducción se consultaron una serie de libros disponibles en directorios online, como *ClinicalKey* o *AccesMedicina*, de inmunología y biología molecular para comprender el contexto y el fundamento de la inmunidad tumoral y la inmunoterapia. Así como páginas web de organismos oficiales como la OMS, *National Institutes of Health* y *Cancer Research Institute*. Por otro lado, la mayor parte de la información fue extraída de artículos científicos consultados en bases de datos, principalmente *PubMed*, y buscadores académicos como *Google Académico* y *ScienceDirect*.

Se seleccionaron aquellas fuentes publicadas preferentemente en los últimos cinco años, tanto en inglés como en español, y su búsqueda se acotó con términos como “*adoptive cell therapy*”, “*inmunidad AND (antitumoral OR tumoral)*”, “*inmunoterapia AND cáncer*” o “*therapy AND lymphocytes*”. Tras la lectura tanto del resumen como del cuerpo de los artículos se seleccionó la información más relevante y se resumió para aportar una visión general y clara del tema.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Inmunoterapia: generalidades y estrategias

La inmunoterapia incluye una serie de estrategias que pretenden dirigir la respuesta del sistema inmune del paciente para la erradicación de las células cancerosas sin afectar a las sanas. Tal y como se mencionó anteriormente (*ver apartado 3.4.*), su objetivo es potenciar la interacción entre células inmunes, bloquear las señales inhibitorias o aumentar la respuesta transfiriendo moléculas o células efectoras (16). Las principales terapias aprobadas se fundamentan en la administración de vacunas, virus modificados, anticuerpos, inmunomoduladores o células inmunitarias manipuladas *in vitro*.

La **vacunación antitumoral** puede ser preventiva, frente a agentes infecciosos relacionados con la aparición de cáncer como el VPH, o terapéutica, aunque sigue en estudio ya que hasta la fecha presenta una efectividad limitada. Destaca el desarrollo de vacunas con antígenos tumorales o con células dendríticas extraídas del paciente que se expusieron *in vitro* a neoantígenos. Incluyen una serie de adyuvantes, generalmente mediadores proinflamatorios como ligandos del receptor tipo Toll o interleucina (IL)-12, para aumentar el reclutamiento de APCs y su inmunogenicidad (15,27,28).

Por otro lado, los **virus oncolíticos** son aquellos modificados para infectar preferentemente a las células cancerosas y producir su lisis, liberando así antígenos tumorales y aumentando la respuesta específica por parte de CTL. Se encuentra aún en desarrollo y únicamente uno fue aprobado por la Agencia Europea de Medicamentos: *talimogén laherparepvec (Imlygic)*, un virus herpes simple tipo 1 alterado para incrementar la presentación de antígenos y la presencia de células dendríticas en el TME indicado en ciertos casos de melanoma metastásico (15,29,30).

Los **anticuerpos monoclonales** (mAbs, *monoclonal antibodies*) son inmunoglobulinas elaboradas artificialmente que se dirigen a una diana concreta, en este contexto, a células cancerosas e inmunes. Pueden ser puros, conjugados con radiomarcadores o fármacos antineoplásicos, o biespecíficos. Estos últimos, están formados por secciones de dos anticuerpos diferentes reconociendo así dos antígenos distintos simultáneamente. Los mAbs

producen la muerte celular por inducción de la fagocitosis, apoptosis o citotoxicidad dependiente de anticuerpos o complemento; bloquean señales de crecimiento y supervivencia o estimulan la aproximación de los linfocitos T y los antígenos (Figura 2) (15,29,31).

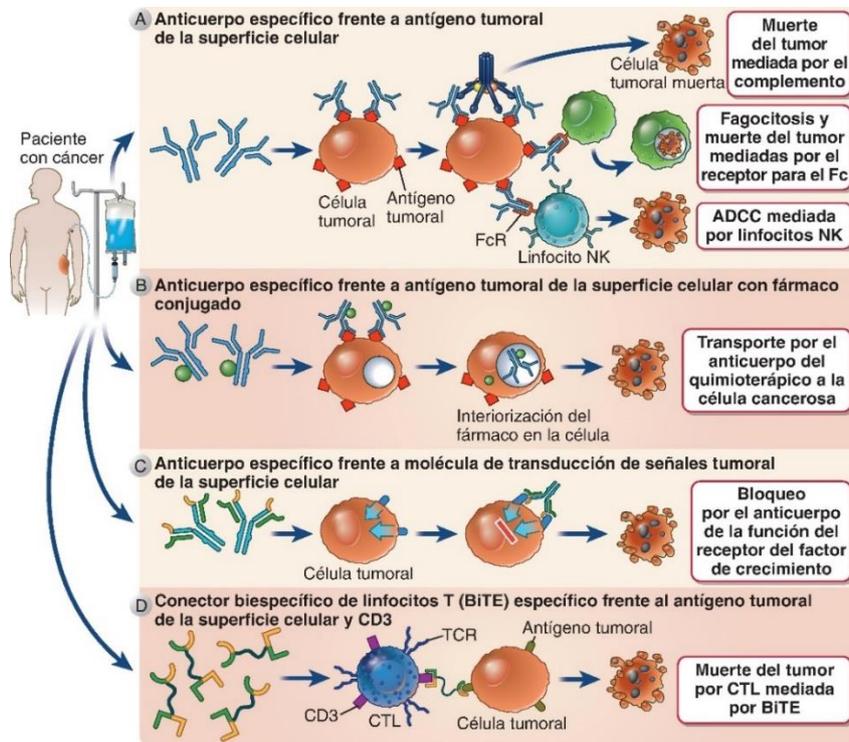


FIGURA 2. Mecanismos de acción de los anticuerpos monoclonales antitumorales. (A) Los mAbs puros inducen la fagocitosis celular o la citotoxicidad dependiente de anticuerpos o complemento. (B) Los mAbs conjugados con fármacos antineoplásicos facilitan su llegada al sitio de acción. (C) También existen anticuerpos específicos que bloquean señales imprescindibles para la supervivencia celular; (D) y biespecíficos que aumentan la proximidad entre el CTL y el antígeno. Fuente: (15).

Otra alternativa terapéutica es la administración de moléculas, denominadas **inmunomoduladores**, que regulan la actividad inmune bloqueando los mecanismos inhibidores o potenciando la respuesta innata y/o adaptativa. Las más utilizadas son las citocinas estimuladoras como IL-2, IL-12 e IFN- α que inducen la maduración, multiplicación y activación de linfocitos y células dendríticas; y los inhibidores de puntos de control (15,31).

Los **puntos de control**, en ocasiones, están asociados a vías de inhibición de la respuesta inmune fundamentales para evitar la autoinmunidad y que son utilizadas por la células tumorales como método de evasión. Se basan en la interacción entre moléculas de superficie

presentes en los linfocitos y las células que, en última instancia, bloquea la activación de los linfocitos T. Cobraron especial relevancia a raíz de las investigaciones llevadas a cabo por James P. Allison y Tasuku Honjo, a los que se les atribuyó el Premio Nobel de Medicina de 2018 por el desarrollo de anticuerpos frente a CTLA-4 y PD-1, respectivamente. La inhibición de estos dos puntos de control fue la que obtuvo mejores resultados; de hecho, los únicos fármacos aprobados de este tipo se dirigen a estas dos dianas (*Figura 3*) (15,29,32).

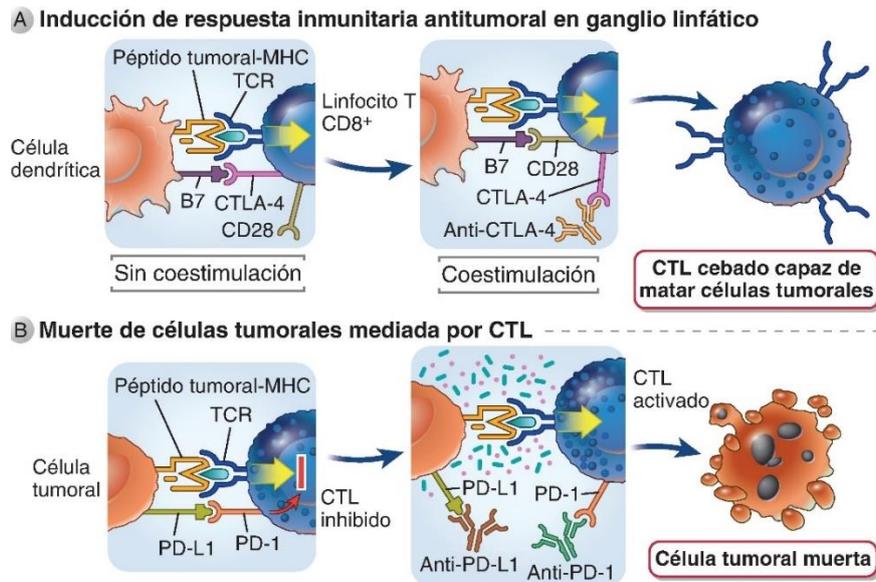


FIGURA 3. Mecanismo de acción de los inhibidores de CTLA-4 (A) y PD-1 (B). El bloqueo de CTLA-4 permite la activación de linfocitos T CD8⁺ o CD4⁺; en cambio, el bloqueo de PD-1 facilita la eliminación directa de células tumorales. *Fuente:* (15).

Por último, a lo largo de los últimos años, ha cobrado especial relevancia las terapias que emplean células inmunitarias manipuladas *in vitro*, denominadas **terapias celulares adoptivas**, por su carácter innovador y prometedor en el tratamiento del cáncer. Se basan en aumentar su capacidad de reconocimiento tumoral y actividad aprovechando sus propios mecanismos efectoras. Además, al tratarse de células vivas, potencialmente pueden dividirse en el paciente provocando una respuesta mucho más duradera que otro tipo de inmunoterapias.

6.2. Terapia celular adoptiva

La TCA se basa en la administración de células inmunitarias manipuladas *in vitro*; concretamente linfocitos T autólogos, del propio paciente, o alogénicos, de otro individuo

(28). Su objetivo principal es la potenciación y aumento de la especificidad de la respuesta inmune y la consiguiente eliminación de las células cancerosas hasta su completa regresión. Esto no ocurre en todos los casos por lo que se tiene que recurrir, en ciertos pacientes, a la terapia combinada y por lo que es fundamental la investigación continua.

Los primeros indicios de su efectividad terapéutica se remontan a finales de los años 80 cuando se descubrió que la infusión de linfocitos infiltrantes tumorales (TIL, *tumour-infiltrating lymphocytes*) presentaba actividad antitumoral relativamente efectiva (33). Posteriormente se desarrollaron diversos enfoques o estrategias terapéuticas considerando el papel de distintos tipos de células en la inmunidad tumoral así como los avances tecnológicos de los últimos años. Esto permitió desde la multiplicación o expansión de linfocitos hasta la modificación genética de los mismos para el reconocimiento de antígenos específicos.

Se diferencian dos mecanismos principales: la **selección y expansión de linfocitos**, como la terapia con TIL, y la **modificación genética** de linfocitos T, como es el caso de la terapia con TCR dirigido y CAR-T, *Chimeric Antigen Receptor T – Cell*.

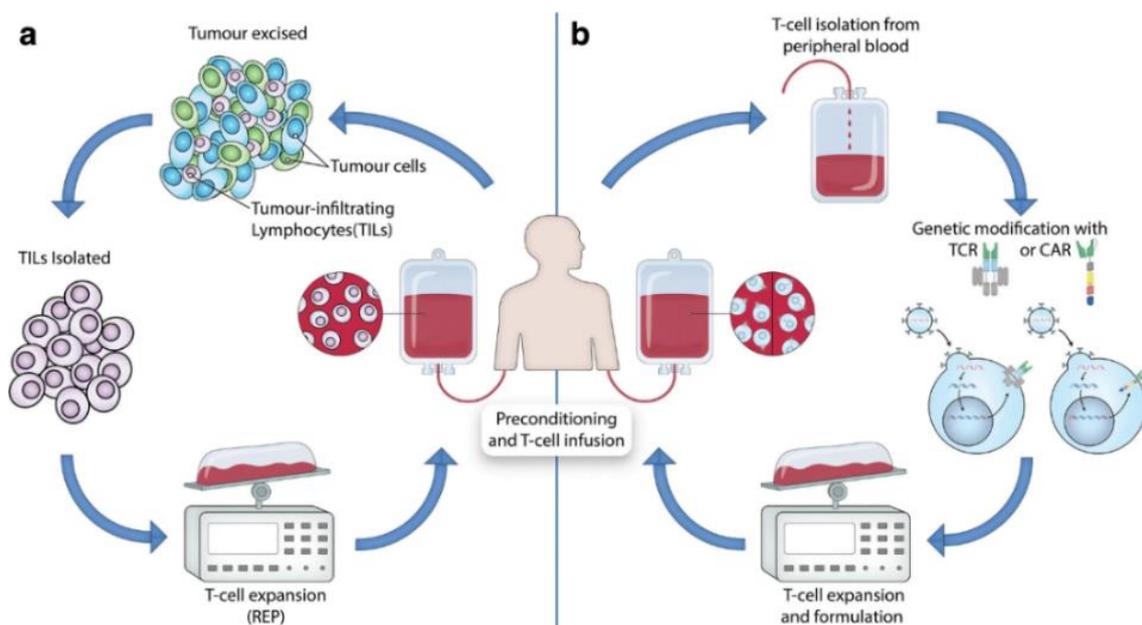


FIGURA 4. Principales estrategias de la TCA. (a) Se extraen TIL de muestras tisulares del tumor, se aíslan y se expanden para infundirlos de nuevo. (b) Se obtienen linfocitos T mediante aféresis, se manipulan genéticamente *in vitro* para que expresen TCR o CAR específicos y se reinfunden al paciente. Fuente: (34).

Actualmente, se cuenta con un número muy reducido de fármacos de este tipo aprobados por las agencias reguladoras aunque se están llevando a cabo ensayos clínicos en numerosos países, incluido España, para su desarrollo y aplicación en diferentes neoplasias.

6.2.1. Terapia con células TIL

Las primeras terapias celulares adoptivas estudiadas se basaron en la obtención de linfocitos autólogos obtenidos de sangre periférica o de tejidos tumorales que se activaron y expandieron *in vitro* para finalmente reinfusionarlos al paciente (15). Concretamente, la terapia con células TIL supuso un antes y un después en la TCA; fue precursora de numerosos estudios y ensayos clínicos a raíz de su efectividad frente al melanoma metastásico. En los diferentes ensayos llevados a cabo logró resultados clínicos, aproximadamente, en la mitad de individuos tratados y la regresión completa en el 10% de estos (34).

Los TIL son poblaciones de células inmunitarias formadas principalmente por linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺, linfocitos B y células del sistema inmune innato que se encuentran en los tumores sólidos y tienen un papel fundamental en la defensa antineoplásica (35). A pesar de su potencial, la progresión tumoral es posible debido a la inhibición de estas células consecuencia del contexto en el que se establecen, el **microambiente tumoral o TME**.

El TME está constituido por una variedad de células cancerosas, inmunitarias (*Tabla 1*) y del tejido conjuntivo como fibroblastos o células endoteliales. Los fibroblastos se encargan del mantenimiento y organización estructural de la matriz extracelular; pero con la carcinogénesis estos se ven alterados llegando a facilitar y/o promover la progresión tumoral: liberan factores de crecimiento, alteran la permeabilidad del tejido y reúnen células endoteliales favoreciendo la angiogénesis, característica de la mayor parte de tumores sólidos (36).

TABLA 1. Papel de las principales células inmunitarias del microambiente tumoral. Fuente: (36).

<i>Macrófagos</i>	Componente más abundante. Dos tipos activados por diferentes subgrupos de linfocitos CD4 ⁺ : <ul style="list-style-type: none"> ▪ M1: actividad proinflamatoria y antitumoral liberando mediadores estimuladores. ▪ M2: inmunodepresores produciendo citocinas inhibitorias.
<i>Neutrófilos</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ N1: actividad antitumoral; incrementan la respuesta inflamatoria y la activación de CTL. ▪ N2: inhiben de la respuesta antitumoral y estimulan de la angiogénesis.
<i>Células dendríticas</i>	Imprescindibles para la activación y multiplicación de linfocitos T.
<i>Células mieloides supresoras</i>	Células progenitoras mieloides, macrófagos, granulocitos y células dendríticas inmaduras presentes fuera de la medula ósea en situaciones patológicas. Generan un entorno inmunosupresor y están implicadas en la angiogénesis, metástasis y resistencia terapéutica.
<i>Linfocitos NK</i>	Eficacia limitada debido al ambiente inmunosupresor del TME.
<i>Linfocitos T y B</i>	Implicados en los mecanismos efectores y reguladores de la respuesta antitumoral.

La suma de todos estos acontecimientos genera un entorno inmunodeprimido y hostil que dificulta la accesibilidad y efectividad de las células inmunitarias tanto a nivel físico como funcional. Esto ocurre especialmente en tumores fríos; aquellos que presentan un menor nivel de inflamación y, por lo tanto, de mediadores estimuladores de la respuesta antitumoral y CTL infiltrados.

La terapia con células TIL, como otras TCAs, se desarrolla considerando estos sucesos para conseguir una respuesta inmune prolongada. Inicialmente, para obtener las células de interés se extraen muestras del tejido tumoral mediante **biopsia o resección del tumor**, procedimiento quirúrgico mediante el cual se extirpa un órgano o parte del tejido. A partir de ésta, se obtiene una suspensión celular bien mediante métodos físicos o enzimáticamente (34,35). Para incrementar la probabilidad de éxito, se pueden **seleccionar los TIL** que reconocen los antígenos de interés mediante técnicas genéticas o inmunológicas como el ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*)(35).

Después los linfocitos se expanden *in vitro* **cultivándolos con IL-2**, citocina que estimula la supervivencia, proliferación y diferenciación de linfocitos T efectores y reguladores. Se

incrementa excesivamente el número de TIL que acaban eliminando las células cancerosas de la muestra, consiguiendo así un extracto puro de células inmunitarias. Esta etapa presenta una duración variable de aproximadamente dos a cuatro semanas (33,34,37).

En la segunda etapa de cultivo, las células se someten a un **protocolo de expansión rápida** durante dos semanas: se exponen a IL-2 en alta concentración, células irradiadas y un anticuerpo anti-CD3 (33). Aunque en ciertos casos se debe simplificar el proceso llevando a cabo un cultivo mínimo debido a, entre otras, las dificultades tanto económicas como de recursos que puede generar un proceso como este (34).

Antes de la infusión de TIL expandidos al paciente, éste se acondiciona administrando fármacos inmunosupresores por vía intravenosa, concretamente agentes alquilantes como la ciclofosfamida y fludarabina en monoterapia o combinación. Se trata de una etapa común en las tres principales estrategias de inmunoterapia celular. El objetivo es producir la **linfodepleción no mieloablativa**, es decir, reducir el número de linfocitos sin afectar a las células madre mieloides. De esta forma, se reduce el número de células inmunodepresoras y se asegura la supervivencia de las células infundidas y el efecto prolongado de las mismas; ya que se evita la competición por citocinas estimuladoras endógenas y las reacciones autorreactivas (33,34).

Para finalizar, los linfocitos se infunden al paciente tras asegurar su pureza mediante citometría de flujo; y se administran por vía endovenosa dosis altas de IL-2 para asegurar la eficiencia de la terapia y la subsistencia de los TIL transferidos (33,35).

Esta terapia es de aplicación únicamente en el tratamiento de cánceres de tumores sólidos, ya que son de los únicos que se pueden obtener células TIL; suponen aproximadamente el 93% de casos a nivel mundial de los últimos cinco años, por lo que, podría ser útil para una gran parte de las neoplasias (3). Aunque, debido a las reacciones adversas y limitaciones que presenta, su aplicación en clínica se encuentra muy restringida:

- **Aislamiento de TIL:** la obtención de células T funcionales o de un número adecuado de éstas puede ser un desafío, especialmente en tumores fríos. Además pueden ser insuficientemente inmunogénicos a causa de la baja carga mutacional del tumor, mutaciones no hereditarias que condicionan la aparición de neoantígenos (38,39).

- **Toxicidad hematológica:** común a la terapia con TIL, TCR dirigido y CAR-T; principalmente por la linfodepleción y la administración de IL-2 que generan linfopenia y neutropenia acompañadas de fiebre, hipotensión, diarrea, espasmos y edema, entre otros (33).
- **Síndrome de liberación de citocinas (CRS, *cytokine release syndrome*):** principal efecto adverso de la TCA consecuencia de activación de los linfocitos T infundidos que desencadena la liberación intensa de citocinas proinflamatorias como IFN- γ e IL-1. Tiene un pronóstico grave y potencialmente mortal; de forma general provoca cefalea, fiebre, náuseas, taquicardia e insuficiencia respiratoria. Presenta una mayor intensidad en aquellos pacientes con alta carga tumoral y se asocia con un mal pronóstico (15,33).
- **Microambiente tumoral:** a pesar de la selección y expansión de linfocitos que reconocen antígenos tumorales específicos, el TME y sus vías inmunosupresoras suponen el principal motivo de la ineficacia de la terapia con células TIL, así como del resto de TCAs (34,35).

En la actualidad, se sigue desarrollando el protocolo adecuado para implementar este tratamiento y reducir sus principales efectos secundarios; por ejemplo, disminuyendo las dosis en el acondicionamiento del paciente o implementando nuevas técnicas de cultivo y selección de linfocitos (34,35).

6.2.2. [Terapia de TCR dirigido](#)

El TCR es un heterodímero presente en la membrana plasmática de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ implicado en el reconocimiento y la activación de estos. Concretamente, se trata de una glucoproteína constituida por una cadena α y β (estructura más frecuente; γ y ϵ en ocasiones) unidas por un enlace disulfuro; cada una con una región variable, que se encarga del reconocimiento de antígenos, y otra región constante da baja variabilidad entre linfocitos con funciones principalmente estructurales (40).

Los dominios variables de cada cadena, a su vez, constan de tres secuencias peptídicas que determinan la complementariedad de antígeno y, por lo tanto, la especificidad de los diferentes TCRs denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR, *complementarity-determining regions*). Por otro lado, todos los TCRs llevan asociados

una serie de moléculas encargadas de la transducción de la señal tras el reconocimiento del complejo antígeno-MHC que, en última instancia, producen la activación del linfocito desencadenando sus mecanismos efectores (40).

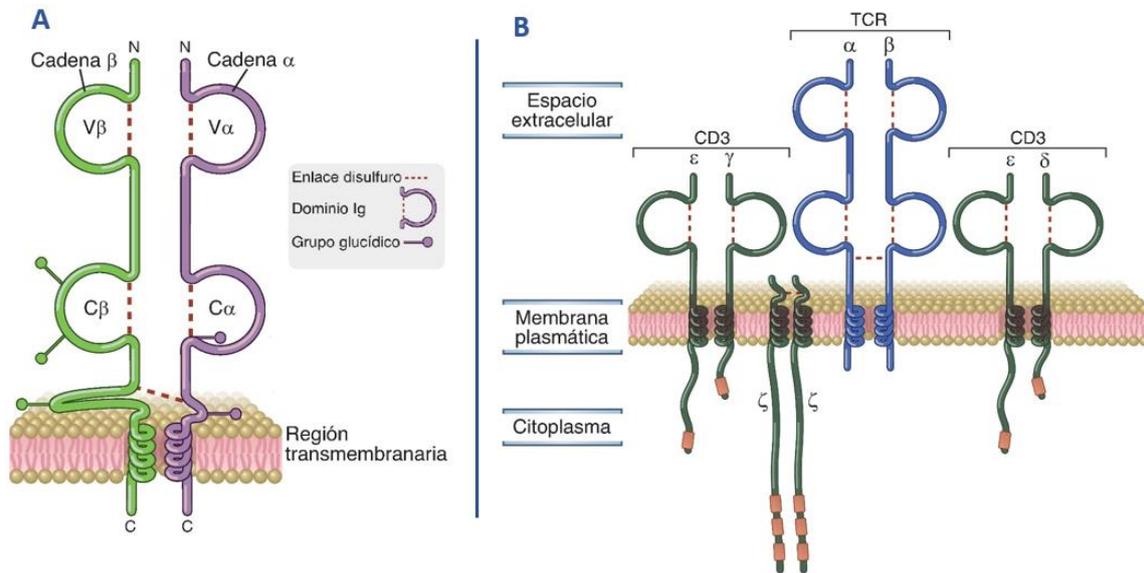


FIGURA 5. Estructura y componentes del TCR y del complejo TCR. (A) Estructura del TCR: cadenas α y β con su región constante (C) y variable (V). (B) Complejo TCR: receptor y moléculas asociadas (dímeros CD3 $\gamma\epsilon$, CD3 $\delta\epsilon$ y CD3 $\zeta\zeta$). Modificado de: (40).

En lo que respecta a la inmunoterapia, mediante ingeniería genética se puede inducir la formación de TCRs adicionales, clonados o sintéticos, para el reconocimiento específico de antígenos tumorales. De forma general, se obtienen linfocitos T del paciente u otro individuo sano, se expanden y se introducen genes codificantes de TCR mediante vectores virales o CRISPR/Cas9, entre otros, para después infundir los linfocitos modificados al paciente (33,34).

Los linfocitos pueden ser obtenidos de masas tumorales o de la sangre periférica mediante aféresis, procedimiento mediante el cual se extrae un componente sanguíneo sin la necesidad de retirar una unidad de sangre total. En este caso, se denomina **leucoféresis** ya que únicamente se extraen los linfocitos devolviendo al torrente sanguíneo el resto de las fracciones.

Posteriormente, los linfocitos T capaces de reconocer antígenos tumorales se aíslan, se expanden y se secuencian para la identificación de los genes codificantes de las cadenas α y β

del receptor, de CDRs específicos de dicho antígeno (34,38). Para ello, **se cultivan** en presencia del antígeno diana y de citocinas estimuladoras como IL-2, IL-7 e IL-12 (41).

Estas secuencias se introducen en el resto de las células T extraídas, induciendo así la expresión de otro par de cadenas. La **transducción de los genes** se lleva a cabo mediante vectores virales aunque existen otras posibilidades como la edición genética y la transferencia mediante ARNm o transposones. Los más utilizados son los retrovirus, virus de ARN que integran su material genético en el hospedador previa transformación en ADN, y lentivirus, un tipo de retrovirus capaz de integrar el material genético incluso en células que no se dividen (38). Por último, al igual que el resto de TCAs, se procede a la expansión de linfocitos manipulados y a su infusión al paciente previamente acondicionado.

El primer ensayo clínico con TCR dirigido se realizó en 2006 frente a antígenos específicos del melanoma consiguiendo cierta regresión del tumor; aunque presentó toxicidad afectando a los melanocitos sanos (34,41). A esto, se sumaron una serie de limitaciones que surgieron a raíz de las investigaciones llevadas a cabo:

- **Selección del antígeno diana:** tanto en la terapia con TCRs clonados como con CAR-T aún no se ha identificado el antígeno más adecuado para la mayor parte de neoplasias. El blanco idóneo es aquel que conduce a una respuesta inmunitaria potente y selectiva; para ello debe expresarse únicamente en células cancerosas y preferiblemente en células madre cancerosas, intervenir en la oncogénesis y ser suficientemente inmunogénico (38,41).
- **Reclutamiento limitado de células T:** ocurre especialmente en tumores fríos como es el caso del cáncer de mama, ovario, páncreas y próstata (36,38).
- **Mecanismos de evasión:** para que los CTL modificados ejerzan su acción y eliminen las células cancerosas es necesario que se unan específicamente al complejo antígeno-MHC presente en la superficie de estas y, en ocasiones, dichas células pierden la expresión de moléculas del MHC.
- **Transferencia de TCR transgénico inefectiva** ocasionada por la competición con cadenas α y β endógenas produciendo una expresión errónea, inespecífica o con una

complementariedad no deseada aumentando así el riesgo de reacciones autoinmunes (38,41).

- **Enfermedad de injerto contra el huésped:** ocurre con la transferencia de células T alogénicas, estas pueden reconocer el tejido del paciente receptor como extrañas y ejercer una respuesta frente a él debido, principalmente, a diferencias entre los antígenos propios o asociados al MHC (41,42).

Actualmente, se están llevando a cabo ensayos para el desarrollo de terapias frente al sarcoma sinovial, leucemia mieloide y cáncer de mama. Los más avanzados utilizan como diana antígenos virales del VPH; MART-1, antígeno del melanoma reconocido por las células T-1; y NY-ESO-1, un tipo de antígeno cáncer-testículo presente en la mayoría de casos de sarcoma sinovial y melanoma (33,41,42).

6.2.3. Terapia CAR-T

Un receptor de antígenos quimérico o CAR se trata de un receptor híbrido creado genéticamente *in vitro* para el reconocimiento específico de antígenos tumorales. Consta de una **región extracelular de unión** al antígeno, una cadena monocatenaria formada por la combinación de las regiones variables de un anticuerpo monoclonal (scFv, *single-chain variable fragment*); y uno o varios **dominios intracelulares** encargados de la señalización responsables de la activación y proliferación de los linfocitos T. En última instancia, se desencadenan una serie de mecanismos efectores que producen la lisis de las células cancerosas (33,34,43).

Los primeros indicios de la posible utilidad y el mecanismo de acción de los CAR-T se obtuvieron a finales de los años 80; a partir de entonces se llevaron a cabo numerosos estudios para su aplicación en clínica, mejorar los protocolos de obtención y aumentar su efectividad, llegando a aprobarse fármacos basados en esta estrategia (33,44),

Se distinguen cuatro generaciones de células CAR-T que se diferencian en su estructura intracelular y actividad antitumoral. Los CAR-T de **primera generación**, formados exclusivamente por un dominio de unión tipo scFv asociado al complejo de transducción CD3 ζ , apenas mostraron actividad citotóxica por su limitada capacidad proliferativa y de señalización. Los de **segunda generación** presentan un dominio intracelular a mayores con

función coestimuladora de CD3 ζ , a diferencia los de **tercera generación**, que presentan dos dominios de este tipo. La adición de señales coestimuladoras produce una mayor liberación de citocinas estimuladoras, potencia la proliferación, activación y subsistencia de los linfocitos T e induce una respuesta más duradera generando linfocitos T de memoria (33,34,42,43). Por último, los CAR-T de **cuarta generación** presentan la misma estructura que las de segunda pero se le adicionan una serie de secuencias que, en última instancia, producen la expresión de ILs que aumentan su actividad, contrarrestan el efecto del TME y permiten prescindir de la linfodepleción de acondicionamiento (33,45,46).

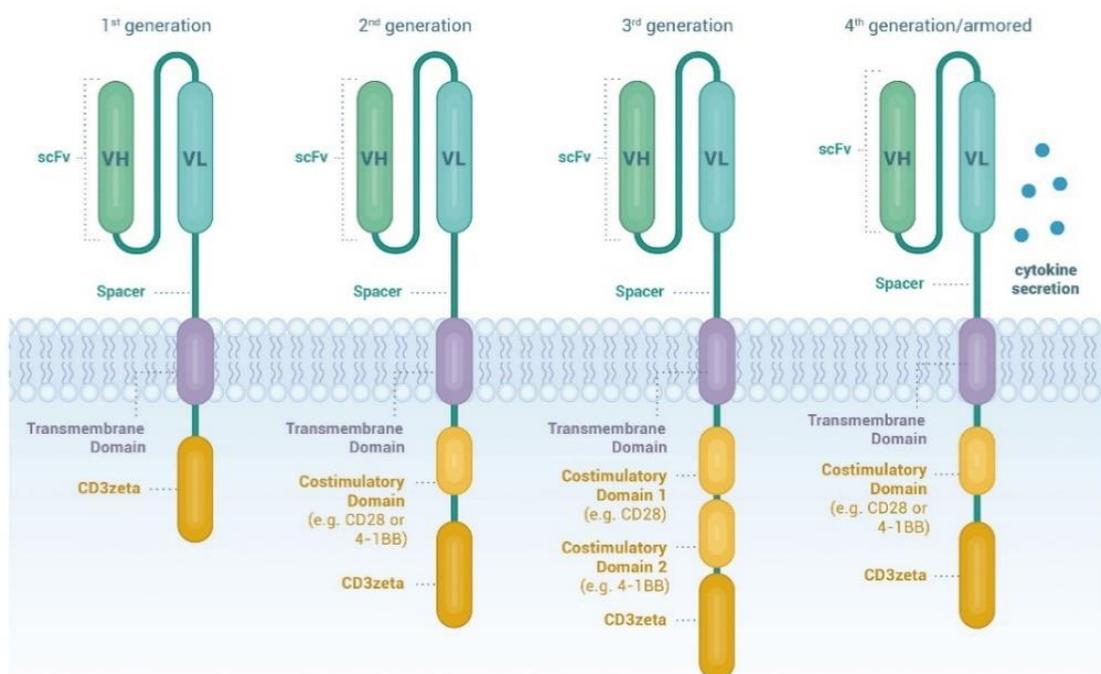


FIGURA 6. Estructura y generaciones de CAR. Se observa una región extracelular scFv constituida por la unión de las regiones variables de las cadenas ligeras (VL) y pesadas (VH) de un anticuerpo monoclonal; una región transmembrana y otra intracelular formada por una región CD3 ζ derivada de TCR y, en función de la generación, dominios coestimuladores (p. ej.: CD28, 4-1BB, CD27, OX40). Fuente: (45).

El procedimiento de elaboración y administración sigue un esquema similar al comentado para las anteriores estrategias: obtención de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ mediante **leucaféresis**, transferencia de genes codificantes de CAR específicos mediante **transducción retroviral**, **expansión *in vitro*** e infusión al paciente previo acondicionamiento mediante **quimioterapia linfodeplectiva** (47). En este caso, no se suele administrar una dosis de IL-2 posterior a la infusión de linfocitos.

La ventaja y característica principal de los CAR-T reside en que su actividad es independiente a las moléculas del MHC, es decir, son capaces de reconocer antígenos tumorales sin la necesidad de que sean presentados y procesados por dicho complejo (33,42,47). Su utilidad radica en que uno de los principales mecanismos de evasión tumoral es la pérdida de expresión de estas moléculas. Por otro lado, su propia estructura supone un reconocimiento mucho más específico ya que el sitio de unión deriva de un mAb dirigido a un antígeno concreto de interés (47).

Los resultados más prometedores fueron obtenidos de ensayos clínicos llevados a cabo con CAR-T de segunda generación en el tratamiento de neoplasias hematológicas, llegando a lograr la remisión completa en determinados tipos de cáncer. La diana terapéutica empleada fue el **antígeno CD-19**, un proteína de superficie presente de forma aberrante en linfocitos B tumorales y que se expresa en menor medida en los sanos; a pesar de ello, puede provocar la aplasia de células B no tumorales exponiendo así al paciente a infecciones o demás agentes externos (43,47).

Por otro lado, además de las limitaciones comunes al resto de TCA mencionadas previamente, la terapia con CAR-T no está exenta de desafíos y obstáculos para su aplicación y desarrollo:

- **Numero de antígenos diana reducido:** debido a que los CAR-T únicamente reconocen antígenos presentes de forma innata en la superficie celular, se dispone de menos dianas terapéuticas que otras estrategias como la de TCRs dirigidos. Especialmente para el tratamiento de tumores sólidos, ya que los antígenos presentes en la superficie celular tumoral están presentes también en la de células sanas (15,29,42).
- **Toxicidad asociada a CRS:** tal y como se mencionó anteriormente (*ver apartado 6.2.1*), el CRS es uno de los principales efectos adversos de la TCA. Puede afectar a diferentes órganos y llegar a ser grave produciendo paro cardiaco, hipoxia o daño renal, entre otros. Es por ello que la monitorización del tratamiento es crítico para asegurar la integridad del paciente y, en ocasiones, es necesario un tratamiento complementario con corticoesteroides o mAbs (48,49).

Además, pacientes tratados con CAR-T dirigidos a CD19 manifestaron cierto grado de **neurotoxicidad**, en la mayor parte de los casos reversible, y posiblemente derivada del

CRS y la alteración en la integridad de la barrera hematoencefálica que supone (33,42,47).

- **Efectividad limitada en tumores sólidos:** las características estructurales del TME suponen un impedimento para el acceso de células CAR-T al lugar de acción; además, en este tipo de tumores es común la sobreexpresión de ligandos de puntos de control inmunosupresores (47).

Esta terapia es la única que ha alcanzado su aplicación en clínica, aunque se siguen investigando nuevas dianas y su utilidad en tumores sólidos. Concretamente, desde 2019 en España están aprobados para su comercialización dos medicamentos CAR-T: *tisagenlecleucel* (*Kymriah*) y *axicabtagen ciloleucel* (*Yescarta*); indicados en casos de recaída o resistencia a quimioterapia de leucemia linfoblástica aguda y linfomas de células B (30,50). Supone un protocolo específico y excepcional ya que implica la obtención de células inmunitarias por aféresis, un procesamiento y acondicionamiento especial y la vigilancia estricta del paciente y los posibles efectos adversos que pueda referir. Están incluidos en el Sistema Nacional de Salud y únicamente se pueden administrar en determinados hospitales (48,49).

6.2.3.1. *Terapia CAR-NK*

A raíz del éxito observado en el tratamiento de neoplasias hematológicas con CAR-T surgieron nuevas modalidades utilizando otras fuentes de linfocitos y/o tipos de células inmunitarias, que actualmente siguen en estudio, como la terapia con linfocitos NK provistos de receptores quiméricos (29).

Este tipo de linfocitos, propios del sistema inmune innato, presentan mecanismos efectores muy similares a los CTL implicados en la inmunovigilancia tumoral. Como la lisis directa mediada por enzimas, la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos o la estimulación de la respuesta adaptativa a través de la liberación de citocinas. Por otro lado, su mecanismo de reconocimiento dista mucho del comentado para TCR. Disponen de una serie de receptores activadores e inhibidores que responden a diferentes estímulos o ligandos que determinan su actividad; como las moléculas del MHC I y moléculas asociadas a la carcinogénesis, respectivamente (51,52).

El proceso de obtención de células CAR-NK es similar al ya expuesto: extracción de sangre periférica o del cordón umbilical, selección y activación de linfocitos NK, transferencia de genes codificantes de CAR mediante retrovirus u otras técnicas, expansión *in vitro* y administración al paciente (52,53).

Se están llevando a cabo investigaciones para su aplicación tanto en cánceres hematológicos como sólidos, ya que presentan una serie de ventajas frente a otras terapias del mismo campo; como el aumento de la actividad antitumoral frente a células que no expresan MHC I y la posibilidad de utilizar células alogénicas sin riesgo a rechazo. Esto supone, a su vez, una menor toxicidad asociada al CRS y una mayor disponibilidad a la terapia por parte del paciente (51–53).

6.3. Discusión de los resultados

Tras la comprensión de los mecanismos de obtención y de acción de las diferentes terapias que se abordan en la presente revisión, se han establecido una serie de similitudes y diferencias entre las mismas que se reflejan en la Tabla 2.

TABLA 2. Características diferenciales de las tres principales estrategias de TCA. Fuentes: (33–35,38,43,45)

	TIL	TCR dirigido	CAR-T
<i>Fuente de linfocitos</i>	Masa tumoral	Sangre periférica	Sangre periférica
<i>Obtención</i>	Biopsia	Leucaféresis	Leucaféresis
<i>Mecanismo de producción</i>	Expansión <i>in vitro</i>	Modificación genética	Modificación genética
<i>Identificación previa del antígeno diana</i>	No	Si	Si
<i>Linfodepleción previa</i>	Si	Si	Si
<i>Afinidad por antígenos tumorales</i>	Variable	Alta	Alta
<i>Estructura del receptor</i>	Heterodímero $\alpha\beta$	Heterodímero $\alpha\beta$	scFv + dominio/s intracelular/es
<i>Reconocimiento dependiente de MHC</i>	Si	Si	No

Respecto a los efectos adversos, los tres enfoques comparten gran parte de ellos ya que son consecuencia de las etapas comunes en su procesamiento y administración, de la

sobreestimulación inmunitaria que producen o del contexto en el que se desarrolla el cáncer. Es el caso de la toxicidad hematológica asociada a la linfodepleción, el CRS o la acción inmunosupresora del TME. No obstante, existen efectos secundarios y limitaciones específicas de cada terapia tales como la obtención de TIL en tumores fríos, la transducción de genes codificantes de TCR, que puede ser ineficiente o errónea, o la baja efectividad de CAR-T en tumores sólidos; que deben ser abordados en investigaciones futuras.

Todo esto condiciona su eficacia y aplicación en clínica. De hecho, tal y como se comentó, la única terapia aprobada en España es la de CAR-T por su elevada especificidad e independencia del MHC que aumentan las probabilidades de reconocimiento y por los resultados obtenidos en el tratamiento de neoplasias hematológicas. El hecho de que no dependan del MHC abre la posibilidad de reconocer antígenos no proteicos como glucolípidos o carbohidratos presentes en la superficie celular. A pesar de ello, la terapia con TCRs clonados o dirigidos posee un gran potencial por su capacidad de responder a un número superior de neoplasias. Aunque depende de las moléculas del MHC para el reconocimiento, proporciona un mayor banco de antígenos diana ya que se incluyen tanto los de superficie como los intracelulares, que acaban siendo presentados en la membrana celular.

La terapia con TIL permanece en un segundo plano debido a la heterogeneidad de las células inmunitarias obtenidas de las masas tumorales que, en ocasiones, no producen una respuesta lo suficientemente intensa o duradera. Por este motivo, en la Tabla 2 se señala una afinidad variable para los TIL; mientras que los TCRs dirigidos y CAR-T expandidos *ex vivo* presentan una mayor capacidad para interactuar con los antígenos tumorales y, por lo tanto, proliferar *in vivo*. Además, en cada tumor existe una extensa variabilidad en el número de linfocitos infiltrados por las condiciones hostiles que supone el TME.

Otra de las grandes diferencias entre la terapia con TIL y las basadas en la modificación genética es la naturaleza clonal de los receptores. En el primer caso, se trata de linfocitos policlonales que pueden reconocer diferentes antígenos, no necesariamente los de interés. En cambio, en la terapia con TCRs dirigidos y CAR-T, se dispone de células monoclonales elaboradas para reconocer específicamente el antígeno diana. Esto a su vez, supone la identificación previa de dicho antígeno, tal y como se indica en la Tabla 2; mediante, p. ej., la

secuenciación genética de las células cancerosas. Se asegura una mayor probabilidad de éxito, aunque en el caso de los TCRs transgénicos se debe tener en cuenta que reconocen un complejo antígeno-MHC concreto. Esto restringe el uso de linfocitos alogénicos debido al polimorfismo propio del MHC, que puede producir reacciones autoinmunes.

Por último, analizando las líneas de investigación actuales de las diferentes terapias, se observa una tendencia hacia el aumento de la especificidad y la disminución de la toxicidad asociada. Se mencionan a continuación algunos de los objetivos que se pretenden lograr en su optimización (33):

- Selección de **TIL específicos** que reconocen los antígenos tumorales.
- **Modificación genética** de los linfocitos T para reducir la expresión de receptores o ligandos asociados a puntos de control inmunosupresores; o para reemplazar el TCR endógeno por el artificial disminuyendo así el riesgo de transducción errónea y la competitividad por las señales estimuladoras.
- Empleo de **dianas más específicas** como los neoantígenos, presentes únicamente en células cancerosas lo que reduciría las reacciones autoinmunes, o antígenos virales asociados al VPH.
- Desarrollo de **CAR-T de cuarta generación** que incrementan la liberación de citocinas estimuladoras como IL-2, IL-7 o IL-18, aumentan la permanencia y proliferación de los linfocitos administrados y evitan la etapa de acondicionamiento previo del paciente.
- Explorar la utilidad de la técnica con CAR en **diferentes tipos de células inmunitarias**, como linfocitos NK o macrófagos.
- **Combinación** con diferentes tipos de inmunoterapia como los inhibidores de puntos de control para contrarrestar la inmunosupresión que sufren las células suministradas.

Tal y como se ha visto a lo largo de esta revisión bibliográfica, gran parte de la dificultad reside en la heterogeneidad de la naturaleza de los tumores y de la respuesta por parte de las células inmunitarias. Muchos tumores suprimen activamente el sistema inmune lo que obstaculiza el reconocimiento, proliferación y efectividad de los linfocitos. A esto se le suma las limitaciones intrínsecas de cada estrategia que pueden estar asociadas con ciertos efectos adversos o el fracaso de la terapia.

7. CONCLUSIONES

El desarrollo y progresión del cáncer implica una serie de factores y alteraciones tanto funcionales como genéticas que, en última instancia, proporcionan a las células cancerosas de las características necesarias para su supervivencia e invasión de otros tejidos. La respuesta inmunitaria se lleva a cabo por diferentes mecanismos que involucran células del sistema inmune innato y adaptativo; especialmente los CTL o CD8⁺. Aunque normalmente ésta resulta ineficaz a causa de la evasión o resistencia tumoral.

En el tratamiento del cáncer, se disponen de diversos abordajes que incluyen técnicas como la cirugía y otras más innovadoras como la inmunoterapia. La TCA es un tipo de inmunoterapia individualizada que, fundamentalmente, incrementa la respuesta inmunitaria del paciente en la defensa antineoplásica. A pesar de ello, debido a una serie de factores, no siempre resulta efectiva. Aunque a priori se trata de una terapia altamente específica y dirigida, no está libre de efectos adversos y desafíos.

Se diferencian tres estrategias principales que han sido desarrolladas a lo largo de las últimas décadas para su optimización: la terapia con TIL, con TCR dirigido y CAR-T. Pese a que presentan características comunes, cada una posee una serie de ventajas y limitaciones que determinan su utilidad terapéutica. De forma general, se obtienen células inmunitarias infiltradas en el tumor o de sangre periférica, se expanden y/o modifican *in vitro* y finalmente se administran al paciente.

El principal desafío al que se enfrenta la TCA es la selección del antígeno diana idóneo, sobre todo que se exprese únicamente en células cancerosas; tanto en la terapia con TCRs transgénicos como con CAR-T. Así como reducir la toxicidad asociada y la resistencia terapéutica ocasionada por el entorno inmunosupresor en el que se desarrolla el cáncer. Por ello, a pesar de contar son fármacos comercializados basados en este tipo de terapia, es crucial su continua investigación y desarrollo para aumentar su efectividad, seguridad y acceso a los pacientes.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Definición de terapia celular adoptiva - Diccionario de cáncer del NCI [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer (NIH) [citado 2 Abr 2022]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/terapia-celular-adoptiva>
2. Cáncer [Internet]. Organización Mundial de la Salud (OMS) [citado 10 Abr 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/health-topics/cancer>
3. Global Cancer Observatory [Internet]. International Agency for Research on Cancer (IARC) [citado 1 Abr 2022]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/>
4. Estadificación del cáncer [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer (NIH). 2015 [citado 10 Abr 2022]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/estadificacion>
5. Cancer Classification [Internet]. SEER Training Modules. National Cancer Institute (NIH) [citado 31 Mar 2022]. Disponible en: <https://training.seer.cancer.gov/disease/categories/classification.html>
6. Catherine Sánchez N. Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. Rev Médica Clínica Las Condes. 2013 Jul 1;24(4):553-62.
7. Genética del cáncer [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer (NIH). 2015 [citado 1 Abr 2022]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/genetica>
8. Pérez Arellano JL. Patología general de las neoplasias. En: Sisinio de Castro Manual de Patología general. 8.ª ed. Barcelona: Elsevier; 2019. p. 127-37.
9. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell. 2011 Mar 4;144(5):646-74.
10. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. Cell. 2000 Jan 7;100(1):57-70.
11. Mizukoshi E, Kaneko S. Telomerase-Targeted Cancer Immunotherapy. Int J Mol Sci. 2019 Apr 12;20(8):1823.
12. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. Signal Transduct Target Ther. 2020 Mar 12;5(1):1-17.
13. DeBerardinis RJ, Chandel NS. Fundamentals of cancer metabolism. Sci Adv. 2016 May 27;2(5):e1600200.
14. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Turner JR, Perkins JA. Neoplasias. En: Robbins y Cotran Patología estructural y funcional. 10.ª ed. Elsevier España; 2021. p. 267-338.

15. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunidad antitumoral. En: Inmunología celular y molecular. 10.^a ed. Elsevier España; 2020. p. 397-416.
16. Vázquez L, Castro D, León J de, Beltrán B. Inmunoterapia en cáncer: de los inicios al premio Nobel. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2020 Jun 8;37:115-21.
17. de León J, Pareja A. Inmunología del cáncer I: bases moleculares y celulares de la respuesta inmune antitumoral. Horiz Méd Lima. 2018 Jul;18(3):80-9.
18. Chen DS, Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. Immunity. 2013 Jul 25;39(1):1-10.
19. Raskov H, Orhan A, Christensen JP, Gögenur I. Cytotoxic CD8+ T cells in cancer and cancer immunotherapy. Br J Cancer. 2021 Jan 19;124(2):359-67.
20. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Mecanismos efectores de la inmunidad mediada por los linfocitos T: Funciones de los linfocitos T en la defensa del anfitrión. En: Inmunología básica. 6.^a ed. Elsevier España; p. 119-36.
21. Pio R, Ajona D, Ortiz-Espinosa S, Mantovani A, Lambris JD. Complementing the Cancer-Immunity Cycle. Front Immunol. 2019 Apr 12;10:774.
22. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología de los tumores y los trasplantes: Respuestas inmunitarias a las células cancerosas y a las extrañas normales. En: Inmunología básica. 6.^a ed. Elsevier España; p. 196-217.
23. Meng X, Sun X, Liu Z, He Y. A novel era of cancer/testis antigen in cancer immunotherapy. Int Immunopharmacol. 2021 Sep;98:107889.
24. Sánchez-Paulete AR, Teijeira A, Cueto FJ, Garasa S, Pérez-Gracia JL, Sánchez-Arráez A, et al. Antigen cross-presentation and T-cell cross-priming in cancer immunology and immunotherapy. Ann Oncol. 2017 Dec 1;28:xii44-55.
25. Doroshow JH. Abordaje del paciente con cáncer. En: Goldman-Cecil Tratado de medicina interna. 26.^a ed. Elsevier España; 2021. p. 1168-88.
26. Guillén Ponce C, Molina Garrido MJ. Qué es, cómo funciona y tipos de quimioterapia [Internet]. SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica. 2019 [citado 12 Abr 2022]. Disponible en: <https://seom.org/157-informacion-al-publico-guia-de-tratamientos/que-es-como-funciona-y-tipos-de-quimioterapia>
27. Morse MA, Gwin WR, Mitchell DA. Vaccine Therapies for Cancer: Then and Now. Target Oncol. 2021;16(2):121-52.
28. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. Nat Rev Immunol. 2020 Nov;20(11):651-68.

29. Tipos de tratamientos de inmunoterapia [Internet]. Cancer Research Institute [citado 8 May 2022]. Disponible en: <https://www.cancerresearch.org/es/immunotherapy/treatment-types>
30. CIMA: Centro de información de medicamentos [Internet]. [citado 21 May 2022]. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>
31. Martín-Aragón S, Bermejo-Bescós P. Inmunoterapia y tratamiento oncológico. Una estrategia prometedora. *Offarm*. 2011 Sep 1;30(5):53-9.
32. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2018 [Internet]. NobelPrize.org [citado 17 May 2022]. Disponible en: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/press-release/>
33. Rohaan MW, Wilgenhof S, Haanen JBAG. Adoptive cellular therapies: the current landscape. *Virchows Arch*. 2019;474(4):449-61.
34. Met Ö, Jensen KM, Chamberlain CA, Donia M, Svane IM. Principles of adoptive T cell therapy in cancer. *Semin Immunopathol*. 2019 Jan 1;41(1):49-58.
35. Lin B, Du L, Li H, Zhu X, Cui L, Li X. Tumor-infiltrating lymphocytes: Warriors fight against tumors powerfully. *Biomed Pharmacother*. 2020 Dec 1;132:110873.
36. Sanz JM, Lahoz AMG, Silva A. El sistema inmune y el microambiente tumoral: componentes y función. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2021 May;13(33):1932-41.
37. Wickström S, Lövgren T. Expansion of Tumor-Infiltrating Lymphocytes from Melanoma Tumors. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2019;1913:105-18.
38. Manfredi F, Cianciotti BC, Potenza A, Tassi E, Noviello M, Biondi A, et al. TCR Redirected T Cells for Cancer Treatment: Achievements, Hurdles, and Goals. *Front Immunol*. 2020 Sep 3;11:1689.
39. Definición de carga mutacional del tumor - Diccionario de cáncer del NCI [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer (NIH) [citado 14 Jun 2022]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/carga-mutacional-del-tumor>
40. Abbas AK. Receptores inmunitarios y transducción de señales. En: *Inmunología celular y molecular*. 10.^a ed. Elsevier España; 2020. p. 151-86.
41. Sun Y, Li F, Sonnemann H, Jackson KR, Talukder AH, Katailaha AS, et al. Evolution of CD8+ T Cell Receptor (TCR) Engineered Therapies for the Treatment of Cancer. *Cells*. 2021 Sep 10;10(9):2379.

42. June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, Ghassemi S, Milone MC. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science*. 2018 Mar 23;359(6382):1361-5.
43. Cuenca JA, Schettino MG, Vera KE, Tamariz LE, Cuenca JA, Schettino MG, et al. Terapia de células T con receptores de antígenos quiméricos: revisión de la literatura. *Gac Mex Oncol*. 2022 Mar;21(1):17-25.
44. Kuwana Y, Asakura Y, Utsunomiya N, Nakanishi M, Arata Y, Itoh S, et al. Expression of chimeric receptor composed of immunoglobulin-derived V regions and T-cell receptor-derived C regions. *Biochem Biophys Res Commun*. 1987 Dec 31;149(3):960-8.
45. Bruno B, Wäsch R, Engelhardt M, Gay F, Giaccone L, D'Agostino M, et al. European Myeloma Network perspective on CAR T-Cell therapies for multiple myeloma. *Haematologica*. 2021 Abr 1;106(8):2054-65.
46. Chmielewski M, Abken H. TRUCKS, the fourth-generation CAR T cells: Current developments and clinical translation. *Adv CELL GENE Ther*. 2020;3(3):e84.
47. El-Daly SM, Hussein J. Genetically engineered CAR T-immune cells for cancer therapy: recent clinical developments, challenges, and future directions. *J Appl Biomed*. 2019 Mar 19;17(1):11-11.
48. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) [Internet]. 2022. Información de seguridad: Yescarta [citado 21 Jun 2022]. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/DocsPub/15/2664>
49. Profesionales: Terapias Avanzadas [Internet]. Ministerio de Sanidad [citado 21 Jun 2022]. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/farmacia/Terapias_Avanzadas.htm
50. Notario Dongil C, Fraga Fuentes MD, Gómez Lluch MT, Marcos de La Torre A, Andrés Navarro N, Valenzuela Gámez JC, et al. CAR-T: luces y sombras. *Rev OFIL*. 2020 Dec;30(4):329-33.
51. Liu S, Galat V, Galat Y, Lee YKA, Wainwright D, Wu J. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 2021 Jan 6;14:7.
52. Shimasaki N, Jain A, Campana D. NK cells for cancer immunotherapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2020 Mar;19(3):200-18.
53. Xie G, Dong H, Liang Y, Ham JD, Rizwan R, Chen J. CAR-NK cells: A promising cellular immunotherapy for cancer. *EBioMedicine*. 2020 Aug 24;59:102975.

9. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría manifestar mis sinceros agradecimientos a mi tutora, Lisa Kay Busch, por la ayuda brindada a lo largo de la elaboración de este trabajo. Por su implicación en el tema, la rapidez y calidad de las correcciones y recomendaciones proporcionadas; así como por el apoyo moral recibido.

Gracias a mi familia, Diego, Lía, Laura e Iria por confiar siempre en mí sobre todo cuando yo no soy capaz de hacerlo, animarme en todo momento a seguir adelante y por compartir este camino conmigo. Por mostrarme la importancia de la perseverancia y el esfuerzo para conseguir todo aquello que te propones.

Especial mención a los compañeros de mi farmacia de acogida durante las Practicas Tuteladas que han hecho más ameno este proceso y me han enseñado tanto.

10. ANEXO: Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Significado
APC	<i>Antigen-presenting cell</i> Célula presentadora de antígenos
CAR	<i>Chimeric antigen receptor</i> Receptor quimérico de antígenos
CDR	<i>Complementary-determining regions</i> Regiones determinantes de complementariedad
CRS	<i>Cytokine release syndrome</i> Síndrome de liberación de citocinas
CTL	<i>Cytotoxic T lymphocytes</i> Linfocitos T citotóxicos
CTLA-4	<i>Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4</i> Antígeno de linfocitos T citotóxicos 4
IFN- γ	Interferón γ
IL	Interleucina
mAbs	<i>Monoclonal antibodies</i> Anticuerpos monoclonales
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i> Complejo principal de histocompatibilidad
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
PD-1	<i>Programmed cell death protein 1</i> Proteína de muerte celular programada 1
scFv	<i>Single-chain variable fragment</i> Fragmento variable monocatenario
TCA	Terapia celular adoptiva
TCR	<i>T cell receptor</i> Receptor de células T
TIL	<i>Tumor-infiltrating lymphocytes</i> Linfocitos infiltrantes de tumor
TME	<i>Tumor microenvironment</i> Microambiente tumoral
VPH	Virus del papiloma humano